

THESIS

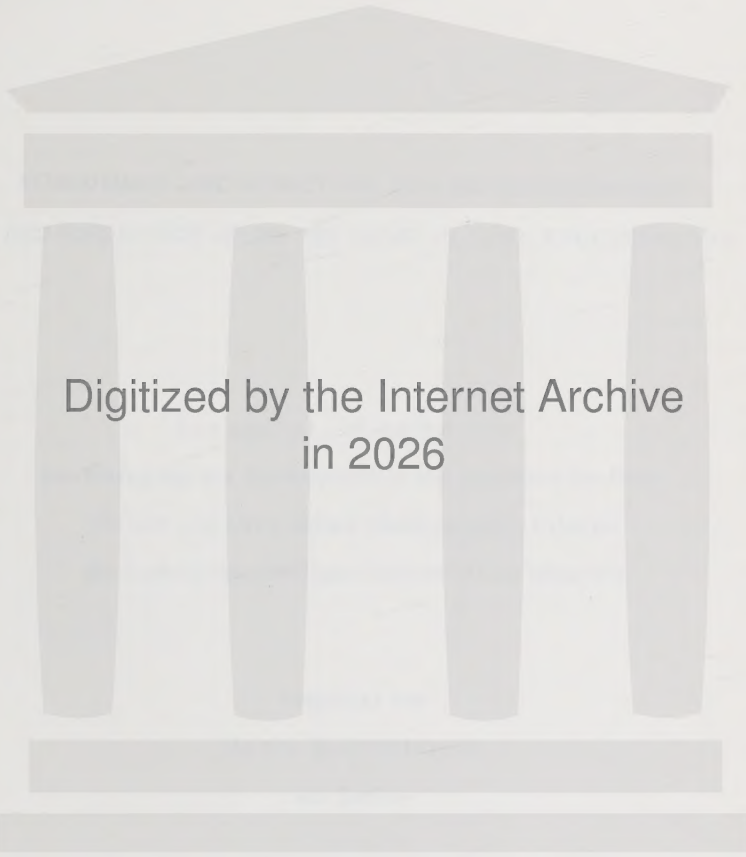
MUNICH

1966

94
PACIFIC MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

**Vorkommen und Bedeutung
von Pigmentkörnchen
in den Sinusendothelien
des menschlichen Knochenmarks**

DORIS DOBBELSTEIN



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153516_0022

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. Herbert Schwiegk

VORKOMMEN UND BEDEUTUNG VON PIGMENTKÖRNCHE
IN DEN SINUSENDOTHELIIEN DES MENSCHLICHEN KNOCHENMARKS

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Doris Dobbelsstein
aus Berlin

München 1966

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München.

Berichterstatter: Professor Dr. Herbert Schwiegk

Dekan: Professor Dr. Rudolf Zenker

Tag der mündlichen Prüfung: 5. April 1966

VORKOMMEN UND BEDEUTUNG VON PIGMENTKÖRNCHEIN IN DEN SINUS- ENDOTHELIIEN DES MENSCHLICHEN KNOCHENMARKS

A. EINLEITUNG

Seit ASCHOFF wurde immer wieder die Frage nach der funktionellen Zusammengehörigkeit von Reticulum- und Endothelzellen aufgeworfen. Spätere Beobachtungen haben gezeigt, daß sich beide Zellarten zwar gegenüber körperfremden Partikelchen ähnlich verhalten können, daß sie sich aber in vielen anderen Funktionen voneinander unterscheiden. So mußte die ursprüngliche Annahme einer gemeinsamen Abwehrfunktion von Reticulumzellen und Endothelien eingeschränkt werden. Offensichtlich dienen die Endothelien des Knochenmarks in erster Linie der Fortleitung des Blutes. Die Sinusendothelien nehmen hier eine Sonderstellung ein wegen ihres doch engen Zusammenhangs mit dem Reticulum und wegen ihrer Rolle bei der Einschleusung reifer Blutzellen. Daß über ihr Verhalten unter normalen und krankhaften Bedingungen noch wenig bekannt ist, hat in der Hauptsache technische Gründe. Erst die Überwindung der Schwierigkeiten bei der Gewinnung und Präparation von Histobiopsien des Knochenmarks durch neue Arbeitsmethoden (BURKHARDT) hat die Voraussetzungen dazu geschaffen, morphologische Einzelheiten des menschlichen Knochenmarks im Verlauf von Krankheiten regelmäßig zu beobachten. Sehr bald wurden dabei bräunliche Körnchen in Sinusendothelien bemerkt, deren Auftreten bestimmten Gesetzmäßigkeiten zu unterliegen schienen. Diese und die mögliche Bedeutung der Pigmentkörnchen sollte in dieser Arbeit näher untersucht werden.

B. LITERATUR

NEUMANN hat als erster Marksinus "als zahlreiche weite Kapillaren mit einer Wand, die aus einer hyalinen Membran mit eingelagerten Kernen und mit diver-tikelartigen spitzen Sprossen besteht", beschrieben. BRASS bezeichnete genauer die Zellen der "breiten Kapillarwände des primären Knochenmarks als dünnes Endothel, dessen einzelne Zellen sich ablösen und ins Lumen hineinragen." Seitdem sind zahlreiche weitere Beobachtungen veröffentlicht worden, auf die hier im einzelnen nur einzugehen ist, soweit sie den Untersuchungsgegenstand selbst berühren. Der Gedanke, daß diese speziellen Kapillardifferenzierungen des Knochenmarks die nächsten Beziehungen zu den Aufgaben dieses Organs besitzen, kommt schon bei ASKANAZY deutlich zum Ausdruck. Aber weder die elektronenmikroskopisch verfeinerte Mikromorphologie (PEASE und ZAMBONI) noch die subtilen Lebendbeobachtungen von KINOSITA und von BRANEMARK haben bisher die Funktion der Marksinus lückenlos erklären können. LÖFFLER konnte nachweisen, daß sich die Sinusendothelien des Knochenmarks von denen der Lymphknoten durch ihren Gehalt an alkalischer Phosphatase, aber nicht durch die beiden gemeinsame Esteraseaktivität, unterscheiden. Unter den bekannten Pigmentablagerungen in den Sinusendothelien des Knochenmarks lassen sich exogene von endogenen trennen. Auch die zuerstgenannten seien kurz erwähnt, weil aus ihrer Art und Intensität auf die Bereitschaft unserer Endothelien zur Farbstoffaufnahme geschlossen werden kann.

Als erste beobachteten PONFICK, HOFFMANN und LANGHANS den Verbleib injizierten Zinnobers im Knochenmark. SIEBEL sah Ablagerungen bei Indigoeinspritzungen. Nach parenteraler Applikation von "Eisensalzen" fand GLAEVECKE bei Kaninchen "Eisenpigment" in nicht näher definierten Knochenmarkszellen. Dabei konnte er keinerlei Einfluß des injizierten Eisens auf den normalen Eisenspeicher-gehalt des Knochenmarks feststellen. Mit Hilfe von Phenylhydrazin, Arsenwasserstoff und anderen Substanzen erzeugten MINKOWSKI und NAUNYN sowie BIONDI eine experimentelle Hämolyse bei verschiedenen Versuchstieren. Während MINKOWSKI und NAUNYN "hämosiderinhaltige Zellen als farblose Blutkörperchen" deuten, beschreibt sie BIONDI "als siderofere Zellen gleich denen, die bisweilen in den Kapillaren und den Lymphscheiden der Gefäße vorkommen. COUSIN befaßte sich genauer mit der Lokalisation von künstlich eingebrachtem Karmin im Kapillarendothel des Knochenmarks von Reptilien, Vögeln, Kaninchen, Meerschweinchen und Hunden. Weder COUSIN noch RIBBERT und NETOUSEK, die auch die Karminspeicherung in Form von roten Körnchen beschrieben, haben zur Identität der von ihnen erwähnten Kapillarendothelien mit den Sinusendothelien Stellung genommen. FRESEN nimmt an, daß die Sinusendothelien des Knochenmarks unter experimentellen Bedingungen Farbstoffteilchen aufnehmen, wenn auch in weit geringerem Maß als das Reticulum. Er

hebt dabei hervor, daß alle künstlich erzeugten Speicherungen in ihrer Intensität von Dosis und Dauer des Angebots wie auch von der Molekülgröße abhängen. Bei experimenteller Untersuchung der Mikrozirkulation im Hundewirbelmark konnte GABEL keine Speicherung von injiziertem Tusche-Serum, von Berlinerblau-Lösung und von dreiwertigem Eisen-Dextran-Komplex in den Sinusendothelien feststellen. Ob frühere Autoren, die solche Erscheinungen im Knochenmark beschrieben haben, ohne sie genauer zu lokalisieren, auch Ablagerungen in den Sinusendothelien sahen, muß deshalb bezweifelt werden.

Über Pigmente, die spontan im Knochenmarksreticulum und speziell in den Sinusendothelien auftreten, ist wenig bekannt. Nach BARGMANN kommen im Reticulum des Knochenmarks Glykogen, Fettstoffe und Lipide, Eiweißarten, Melanine oder Lipofuscin, sowie "eisenhaltiges Hämosiderin" vor. Der einzige Hinweis auf physiologische Einlagerungen in den Sinusendothelien des Knochenmarks findet sich bei HESCHI und SACCHETTI: "Sie" d. h. die Endothelzellen "sind groß und von länglicher Form; das Cytoplasma ist schwach basophil und kann rötliche, oft grobe Körner enthalten." BRASS hat gelbbraune Körnchen im histiocytären Knochenmarksendothel gesunder Hunde und Kaninchen beschrieben, die er in Paraffinschnitten, gefärbt mit Hämalun-Eosin oder Mallory'schem Hämatoxylin, fand. Obwohl er mit einer nicht näher angegebenen Eisenfärbung ähnlich wie SCHMIDT beim Frosch negative Ergebnisse erhielt, faßte er das Pigment als veränderten Blutfarbstoff auf, der, durch die Zerstörung der Erythrozyten frei geworden, den Endothelzellen zugeführt wird. Als Abkömmlinge des Hämoglobins werden auch von ASKANAZY braun-schwarzliche Elemente in den Endothelien des Knochenmarks gedeutet. Ob auch die zahlreichen Pigmentkörnchen im Mark des Menschen, die PETERS "bei einigen Fällen von Marasmus auf Grund roter Nierenatrophie oder kindlichen Darmkatarrhs" fand, mit physiologisch auftretenden Granulationen identisch sind, ist zweifelhaft. Der Verfasser gibt weder eine genaue Lokalisation des Pigments an, noch konnte er eine Abhängigkeit der Pigmentationen von der Schwere des Krankheitsbildes ermitteln. Wir finden somit nur zwei Beobachtungen, die sich mit Wahrscheinlichkeit auf den Gegenstand dieser Untersuchung beziehen; die von FIESCHI und SACCHETTI und die von BRASS.

Von den meisten Autoren, die sich mit den Sinusendothelien des Knochenmarks befassen, wird die Frage nach einem funktionellen Zusammenhang der untersuchten Strukturen mit der Erythropoese und der Erythrozyteneinschleusung in den Kreislauf gestellt. DOAN glaubte auf Grund von experimentellen Untersuchungen an zellarmem Taubenmark an eine intravaskuläre Entstehung der Blutzellen, "die sich in die Sinus durch zunehmenden Wachstumsdruck entleeren". Diese Auffassung, früher von zahlreichen Autoren geteilt, steht zu den meisten neueren Beobachtungen in Widerspruch. An menschlichem, intravital entnommenem

Mark konnte BURKHARDT zeigen, daß die normale und - mit wenigen Ausnahmen - auch die pathologische Erythropoese in der Nachbarschaft, aber nicht innerhalb der Marksinus stattfindet. Die bisher noch nicht erklärte Tatsache, daß nur reife Blutzellen die Sinuswand passieren, ist ein Grund mehr, den morphologischen Besonderheiten dieser Einrichtung Aufmerksamkeit zu schenken.

C. MATERIAL UND METHODIK

I. Krankengut:

Die Untersuchungen wurden an Schnittpräparaten von 411 Knochenmarksbiopsien, die man durch die Myelotomie-Methode (BURKHARDT) erhielt, bei 411 Patienten zumeist aus der I. Med. Universitätsklinik München, vorgenommen. Diese Patienten gehörten folgenden diagnostischen Gruppen an:

Klinische Diagnose	Pat. Zahl			Durchschn. Alter
			zus.	
I. Anämien	11	22	33	39,3
II. Knochenmarkbildgstörg.	14	20	34	42,5
III. Markscheiden (Stoffw.)	9	6	15	50,0
IV. Rheumat. Erkrankungen	16	34	50	46,3
V. Hämoblastosen	20	15	35	51,1
VI. Reticulosen	27	21	48	51,9
VII. Granulom. benign. Retic.	2	2	4	31,8
VIII. Osteomyelosklerosen	7	11	18	56,7
IX. Osteopathien	12	30	42	50,5
X. Polycythaemia vera	45	27	72	56,3
XI. Markfremde Tumoren	3	3	6	62,8
XII. Polyglobulien	11	1	12	43,5
XIII. Strahlenschäden	0	4	4	50,8
XIV. Normalfälle	12	16	28	44,1
XV. Varia	7	3	10	44,9

In diesen Gruppen waren folgende Einzelfälle enthalten:

Zu I. Morbus Biermer, hämolytische Anämien, Blutungsanämien, Infektanämie, und Hypersplenismus.

Zu II: Partielle und totale, akute und chronische Knochenmarksinsuffizienz.

Zu III: Hepatogene und nephrogene Knochenmarkschädigungen.

Zu IV: Rheumatisches Fieber, rheumatoide Arthritis, Felty-Syndrom, "Kollagenosen".

Zu V: Akute Stammzellen-Leukämie, subakute Myelosen, chron. -lymphat. - und granulocytäre Leukämie, chronische Erythroblastose.

Die übrigen Gruppen bedürfen keiner näheren Erläuterung.

II. Histologische Technik

Nach einem von BURKHARDT angegebenen Verfahren wurden die Biopsien sofort nach der Entnahme fixiert und eingebettet, sodann 3 μ dünn geschnitten und gefärbt. Zur Auswertung wurden nur mit Azur-Eosin oder Gallaminblau-Giemsa gefärbte Schnittpräparate verwandt, in denen die gesuchten Strukturen am deutlichsten zu erkennen waren.

III. Auswertung

Sowohl die Menge der Sinusendothelien wie auch die der in ihnen enthaltenen Pigmentkörnchen sollte erfaßt werden. Mit der Mäander-Methode wurden jeweils 50 Sinusendothelien gesucht und die Zahl der Körnchen in jeder einzelnen Endothelzelle bestimmt. Diese Zahlen wurden in Gruppen folgendermaßen zusammengefaßt:

Gruppe 1 :	Körnchenzahl	0
Gruppe 2 :	"	1 und 2
Gruppe 3 :	"	3 und 4
Gruppe 4 :	"	5 und 6
Gruppe 5 :	"	7 und mehr

Als Maßstab für die Zahl der Sinusendothelien wurde mit Hilfe eines Meßtisches am Mikroskop die Fläche bestimmt, in der jeweils 50 Sinusendothelien gefunden werden konnten. Danach wurde die Durchschnittsfläche für je 10 Sinusendothelien in jedem Fall einzeln ermittelt. In vergleichenden Berechnungen suchten wir dann nach einer Beziehung zwischen Sinusendotheldichte und Pigmentkörnchenzahl im einzelnen Sinusendothel, sowie verschiedenen Parametern.

IV. Histochemische Untersuchungen

An mehreren Schnittpräparaten mit besonders zahlreichen Körnchen wurden die folgenden Nachweisuntersuchungen durchgeführt.

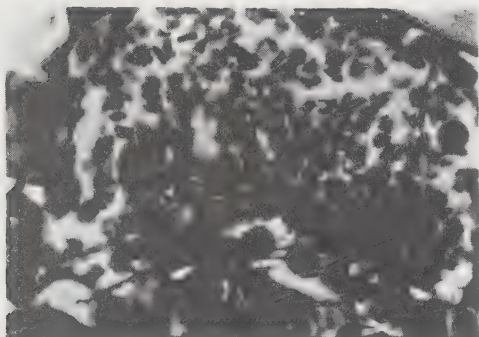
1. Studium ungefärbter Schnitte im Durchlicht.
2. Studium ungefärbter Schnitte im Phasenkontrastmikroskop.
3. Studium ungefärbter Schnitte im polarisierten Licht.
4. Studium nach Inkubation der Schnitte in konzentrierter NaOH (12 Stunden).
5. Studium nach Inkubation der Schnitte, in 2 %iger HCl (20 Minuten).
6. Färbung mit Sulfidsilber.
7. Färbung mit Sudanschwarz.
8. Färbung mit PAS.
9. Färbung nach Feulgen.
10. Färbung mit Hämaalaunosin.
11. Färbung mit Mallory-Hämatoxylin.
12. Färbung nach Turnbull, sowie Turnbull-Färbung nach H₂O₂-Behandlung.
13. Benzidin-Behandlung zur Darstellung von maskiertem Eisen.
14. Vorbehandlung nach Okamoto zur Darstellung von maskiertem Eisen.
15. Lipofuscin-Färbung nach Schmorl.
16. Nilblausulfat-Färbung
17. Melaninbleiche ohne und mit Gegenfärbung mit Kernechtrot.
18. Prüfung auf Argentaffinität.

Elektronenoptische Untersuchungen sollen später durchgeführt werden.

D. ERGEBNISSE

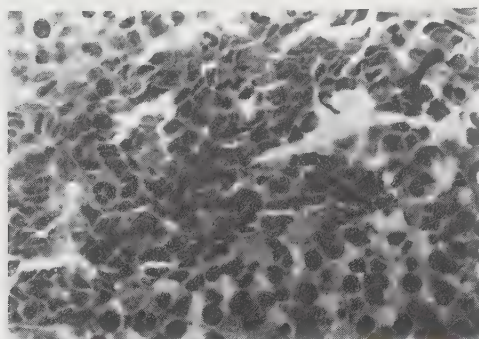
I. Beschreibung der Granula

In den Sinusendothelien des menschlichen Knochenmarks finden sich nicht selten bräunlich-schwarze Körnchen, die ihre Farbe unter den üblichen histologischen Färbungen nicht wesentlich verändern. Es sind rundliche, unregelmäßig gestaltete und ungefähr gleich große Granulationen, deren Durchmesser etwa $0,1\ \mu$ bis $0,3\ \mu$ beträgt. Sie treten nie in größeren Schollen wie z.B. Siderin auf. Sie finden sich fast ausschließlich in den Uferzellen der Sinus und zwar zumeist in einigem Abstand vom Zellkern. Sehr selten kommen sie auch in Endothelien von arteriellen Kapillaren vor. Ihr Vorkommen, ihre Form, Größe und Färbung sind so einheitlich, daß kaum gezweifelt werden kann, daß es sich jeweils um dieselbe Erscheinung handelt. Die folgende Abbildung soll die typische Lage des Pigments veranschaulichen.



a. Myelotomie: Patient B.H. Einbettung: Acrylatgemisch
Färbung: Gallaminblau-Giemsa; Vergrößerung: 500 fach

Knochenmarksinus mit Pigmentkörnchen im Plasma der Sinusendothelien.



b. Myelotomie: Patient B.H. Einbettung: Acrylatgemisch
Färbung: Versilberung (Argentaffinität); Vergrößerung 500 fach

Nach Versilberung erkennt man die Körnchen deutlicher.

II. Vergleichende statistische Untersuchungen

Um die Bedeutung dieser Körnchen aufzuklären, wurden vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Parametern durchgeführt.

- a. Beziehung des Alters zu Sinusendothel- und Pigmentkörnchendichte (ohne Berücksichtigung der Diagnose)

Lebensjahre	Pat. -Zahl zus.			Fläche f. 10 SE	Durchschn. Gran. pro 10 SE
I. 0 - 20	11	11	22	4,2	1,7
II. 20 - 40	38	43	81	3,9	6,2
III. 40 - 60	86	104	190	4,3	5,5
IV. 60 - 80	59	56	115	4,9	4,2
V. 80 -100	2	1	3	+	3,8

+) statistisch nicht zu erfassen wegen zu geringer Fallzahl.

- b. Beziehung des Geschlechts zu Sinusendothel- und Pigmentkörnchendichte (ohne Berücksichtigung der Diagnose)

Geschlecht	Pat. -Zahl	Fläche f. 10 SE	Durchschn. Gran. pro 10 SE
männl.	196	4,6	5,1
weibl.	215	4,1	5,3

Um eine mögliche Beziehung zwischen klinischer Diagnose, Körnchen, Sinusendothelien, Lebensalter und Geschlecht festzustellen, haben wir diese Parameter bei allen Gruppen mit genügender Fallzahl untersucht.

Beziehungen zwischen klinischer Diagnose einerseits und 1. Fläche für 10 Sinusendothelien pro Patient.

2. Häufigkeitsverteilung von schwarzen Granula in 10 Sinusendothelien pro Patient.
3. Absolute Häufigkeit schwarzer Granula pro 5 mm² Knochenmarksfäche.

Diagnostische Gruppe	Patienten-Zahl				Durchschn. Alter	Durchschn.		Abs. Häufigk. d. Gran./5 mm ²
	ges.	♂	♀	X		Fläche f. 10 SE	Durchschn. Granula/10 SE	
I. Anämien	33	11	22	31	39,3	2,75	5,24	9,5
II. Knochenmarks- bildgs. störg.	34	14	20	29	42,5	5,33	3,65	3,4
III. Markschäden b. Stoffw. störg.	15	9	6	14	50,0	4,3	10,28	11,9
IV. Rheumatische Erkrankungen	50	16	34	44	46,3	4,32	7,2	8,3
V. Hämoblastosen	35	20	15	34	51,1	4,66	2,38	2,6
VI. Reticulosen	48	27	21	44	51,9	3,97	1,21	1,5
VII. Granulom. benign.								
Reticulosen	4	2	2	4	31,8	3,5	7,45	11,0
VIII. Osteomyelosklero- sen	18	7	11	18	56,7	4,27	1,27	1,5
IX. Osteopathien	42	12	30	38	50,5	5,44	6,62	6,2
X. Polycythaemia vera	2	45	27	69	56,3	3,68	8,59	11,5
XI. Markfremde Tu- moren	6	3	3	4	62,8	11,0	0	0
XII. Polyglobulien	12	11	1	11	43,5	3,49	11,82	17,0
XIII. Strahlenschäden	4	0	4	4	50,8	3,5	4,95	7,0
XIV. Normalfälle	28	12	16	27	44,1	6,24	6,67	5,3
XV. Varia	10	7	3	10	44,9	4,4	1,16	1,3

X Anmerkung: Patientenzahl unter Ausklammerung der insgesamt 30 Fälle, bei denen man zur Auszählung von 10 Sinusendothelien mehr als 20 mm² Fläche benötigt.

SE = Sinusendothelien SG = Schwarze Granula

Aus dieser Tabelle läßt sich die Zahl der Sinusendothelien, und die absolute Zahl der Körnchen im Knochenmarksquerschnitt, sowie die durchschnittliche Granulazahl in den Sinusendothelien bei bestimmten Krankheitsgruppen ansehen. Auffallend ist eine Granulavermehrung bei 33 Fällen mit Anämien ($p=0,7$), und bei 15 Patienten mit Markschäden bei Stoffwechselstörungen (hepatogene, nephrogene) ($p=0,5$). Signifikant wird die Häufung von Granula bei 72 Präparaten, die sich unter Polycythaemia vera ($p=0,3$) und 12 Präparaten, die sich unter Polyglobulien ordnen ($p=0,05$).

Anmerkung: p bedeutet die Wahrscheinlichkeit des Zufalls berechnet nach der χ^2 - Verteilung.

Zur Verdeutlichung einer Beziehung der klinischen Diagnose zur Sinusendothel- und Granuladichte sollen folgende Einzelaufstellungen dienen.

1. Einzelaufstellung von 10 Fällen mit dem dichtesten Vorkommen von Sinusendothelien.

Fläche f. 10 SE (mm ²)	Name	Alter	Sex	Durchschn. SG i. 10 SE	Diagnose
0,4	E. Th.	60	♀	0	Osteomyeloreticulose
0,6	Z. L.	63	♂	18,8	Hepatogener Markschaden
0,8	A. A.	8	♂	5,4	Fermentdefekt bed. Anämie
0,8	L. H.	27	♂	12,6	Infekt bedingte Anämie
0,8	A. M.	56	♀	2,4	Agranulocytose
0,8	R. R.	55	♀	0	Osteomyeloreticulose
0,8	L. N.	49	♀	2,8	Osteomalacie
0,8	S. H.	65	♂	18,4	Polycythaemia vera
1,0	E. Th.	36	♀	17,0	Speicherkrankheit
1,0	H. M.	49	♂	16,2	Polyglobulie

2. Einzelaufstellung von 10 Fällen mit der höchsten Durchschnittszahl von Pigmentkörnchen pro 10 Sinusendothelien,

Zahl d. SG pro 10 SE	Name	Alter	Sex	Fläche f. 10 SE (mm ²)	Diagnose
35,8	H. O.	57	♀	2,4	Rheumat. Arthri- tis
31,8	G. J.	54	♂	2,8	Osteoporose
31,4	F. F.	48	♀	4,0	Normalfall
29,6	K. F.	50	♂	4,8	Polycythaemia vera
28,8	Ch. K.	41	♂	4,0	Polycythaemia vera
27,0	St. M.	66	♀	3,2	Polycythaemia vera
25,8	Ch. A.	58	♀	3,2	Polycythaemia vera
25,8	K. B.	38	♀	4,0	Hepatogener Markschaden
25,0	B. Ch.	62	♂	1,6	Polyglobulie
25,0	St. M.	50	♀	3,6	Part. myeloische Insuffizienz

d. Beziehungen zwischen der Sinusendothel- und durchschnittlichen Körnchen-
dichte pro 10 Sinusendothelien:

Diese Zusammenhänge kann man aus allen Tabellen entnehmen.

III. Ergebnisse der färberischen Untersuchungen

Die früher erwähnten Körnchen verhalten sich dabei wie folgt:

1. Studium ungefärbter Schnitte

- a. im Durchlicht: bräunlich-homogen
- b. im Phasenkontrastmikroskop: fast schwarz, z. T. mit stärker konturierter Rand.
- c. im polarisierten Licht: nicht lichtbrechend

2. Studium nach Inkubation der Schnitte
 - a. in NaOH: Körnchen verschwunden.
 - b. in HCl: nicht beeinflusst.
3. Prüfung auf Schwermetallsalze erwies sich wegen der vorausgegangenen Formolfixation als technisch nicht möglich.
4. Prüfung auf Fettstoffe und Lipide mit Sudanschwarz: keine Färbung.
5. Prüfung auf Glykogen mit PAS: keine Färbung.
6. Prüfung auf DNA mit der Feulgen-Färbung: keine Färbung.
7. Prüfung auf Eisen:
 - a. Hämalun-Eosin-Färbung wie bei Brass: keine Granula mehr erkennbar.
 - b. Mallory-Hämatoxylin zum Nachweis von Hämosiderineisen: negatives Ergebnis.
 - c. Turnbull-Färbung: keine Blaufärbung der Körnchen. Dabei fiel aber auf, daß die Menge der Pigmentkörnchen in den Sinusendothelzellen häufig gerade dann gering war, wenn das übrige Reticulum auffallend viel Siderin speicherte.
 - d. Turnbull-Färbung nach vorheriger Behandlung mit Wasserstoffsuperoxyd zum Nachweis von Hämatin und Ausschluß von Formolpigment: negativ.
 - e. Benzidin-Methode zum Nachweis von Hämoglobin: keine Blaufärbung der Granula.
 - f. Okamoto-Verfahren zur Kennzeichnung von maskiertem Eisen: negativ.
8. Prüfung auf Lipofuscin: nach der Schmorl'schen Methode färben sich die Körnchen deutlich ab.
9. Prüfung auf Melanin: Da sowohl Lipofuscin wie auch Melanin als reduzierende Substanzen gelten und bei der Schmorl'schen Methode positiv reagieren, wurde
 - a. mit der Nilblausulfat-Färbung eine Differenzierung vorgenommen, wobei keine Anfärbung der Granula erkennbar war. Lipofuscin hätte bei dieser Färbung blau erscheinen müssen.

- b. Nach der Melaninbleiche sind Granula gebleicht.
- c. Zur weiteren Sicherung der Identität der Granula mit Melanin: Die schwarz-gefärbten Körnchen lassen sich durch Versilberung besonders scharf markieren.

E. DISKUSSION

I. Zur Bedeutung der pigmenthaltigen Sinusendothelien können anhand vergleichender statistischer Untersuchungen folgende Aussagen gemacht werden.

1. Beziehungen des Lebensalters zu Sinusendothel- und Pigmentkörnchendichte. Am gesamten Material:

Ein statistisch zu sichernder Unterschied war innerhalb der Altersgruppen weder für die Zahl der Sinusendothelien, noch für die Körnchendichte festzustellen. An Normalfällen und Krankheitsgruppen mit höherer Fallzahl: Da auch hier keine wesentlichen Differenzen in den einzelnen Altersstufen auftraten, ist das Alter wahrscheinlich kein Faktor, der Einfluß auf Sinusendothelien- oder Granulabildung hat. Da sich unsere Körnchen in jedem Alter finden, sogar schon bei einem 13 Tage alten Kind und ihre Zahl nicht mit zunehmendem Alter ansteigt, kann man die Identität mit einem sogenannten Alters- oder Abnutzungspigment ausschließen.

2. Beziehungen des Geschlechts zu Sinusendothel- und Pigmentkörnchendichte. Auch hier schwankten die Ergebnisse für Sinusendotheldichte und Pigmentkörnchenzahl bei männlichen und weiblichen Patienten in nicht signifikanten Bereichen. Da wir über eine relativ große Fallzahl verfügten, können wir somit eine Abhängigkeit der Sinusendotheldichte und Granulahäufigkeit vom Geschlecht des Patienten mit Wahrscheinlichkeit ausschließen. Die Stimulation der Sinusendothelbildung und der Körnchenentstehung hängt also nicht von Geschlechtshormonen ab.

3. Beziehungen der klinischen Diagnose - zu Sinusendothel- und Pigmentdichte. - zu Sinusendotheliendichte:

Im allgemeinen finden wir keine statistisch gesicherte Abhängigkeit zwischen der klinischen Diagnose und der Sinusendothelienzahl. Allerdings fällt eine zunehmende Dichte der Sinusendothelien bei Anämien auf, was noch deutlicher aus der Einzelaufstellung der 10 Fälle mit dem dichtesten Sinusendothelvorkommen hervorgeht, sowie eine starke Verringerung der Sinusendothelien bei markfremden Tumoren. Letztere Feststellung ist leicht erklärlich durch den strukturverdrängenden Prozeß.

Obwohl wahrscheinlich kein Zusammenhang zwischen der Sinusendothelzahl und bestimmten Krankheitsgruppen besteht, liegt bei der Gruppe der Anämien die Deutung einer Sinusendothelproliferation im Rahmen eines allgemeinen Regenerationsversuches nahe.

- zu Pigmentdichte:

Wie auch an weiteren Präparaten von Normalfällen, die nicht mehr im zitierten Material enthalten waren, festgestellt wurde, finden sich die Körnchen immer in diesem klinisch gesunden Knochenmark. Daraus kann man schließen, daß die Körnchenbildung an sich kein krankhafter Vorgang sein kann. Da uns aber weit mehr pathologische Fälle zur Verfügung standen, versuchten wir aus dem Vorkommen bei stark unterschiedlichen oder gar gegensätzlichen Krankheitsbildern zum Verständnis physiologischen Verhaltens zu gelangen.

Eine Verringerung der Pigmentationen kann nicht in statistische Beziehung zu anderen Merkmalen gebracht werden, da sie besonders bei knochenmarkzerstörenden Krankheiten auftritt, bei denen auch die Zahl der Endothelien stark abgenommen hat. Allerdings kann eine verringerte Anzahl von Pigmentkörnchen bei Diagnosegruppen mit herabgesetzter Erythropoese, wenn auch nicht statistisch sicher, festgestellt werden. Im Gegensatz zu unerheblichen Schwankungen der absoluten Häufigkeit der Granulazahl im Knochenmarkquerschnitt ohne Aussagekraft sind bei einigen Diagnosegruppen die Pigmentkörnchen signifikant vermehrt. (Polycythaemia vera, Polyglobulien) Auch in der Einzelaufstellung der 10 Fälle mit der höchsten Durchschnittszahl von Pigmentkörnchen pro 10 Sinusendothelien finden sich diese Diagnosegruppen bei 5 Patienten. Die Frage nach dem gemeinsamen Merkmal dieser Gruppen liegt nahe. Sowohl für Polycythaemia vera wie für Polyglobulien ist die proliferativ aktive Erythropoese bei geringem Sideringehalt im Reticulum typisch. Auch die gesteigerte Zellausschwemmung ist beiden gemeinsam, soweit sie die Erythropoese betrifft.

4. Beziehung zwischen Menge der Sinusendothelien und durchschnittlicher Körnchendichte in 10 Sinusendothelien.

Obwohl wegen der unterschiedlichen Parameter keine statistische Signifikanz ermittelt werden konnte, besteht zwischen der Zahl von Sinusendothelien und der in ihnen enthaltenen Pigmentkörnchen sicher keine numerische Beziehung. Die Häufigkeit der auftretenden Pigmentationen stellt also nicht einfach eine Funktion der Sinusendotheldichte dar. Auch diese Feststellung bekräftigt eine besondere Rolle der Pigmentkörnchen innerhalb der Sinusendothelien.

II. Zur Natur der Pigmentkörnchen kann anhand der vergleichenden färberischen Untersuchungen folgendes festgestellt werden:

Mit den angewandten Nachweismethoden ist es nicht gelungen, die Natur der un-

tersuchten Körnchen histochemisch vollständig aufzuklären. Mit Sicherheit scheiden körperfremde Substanzen aus, da die Patienten keine Injektionen bekamen und durchaus unterschiedliche Krankheiten hatten. Daß Glykogen, Fettstoffe und Lipoide oder Kernmaterial die Substanz zu den Körnchen liefern, ist auf Grund unserer Färbungen sehr unwahrscheinlich. Der Ausschluß von Lipofuscin stimmt mit unserer schon statistisch abgeleiteten Feststellung überein, daß die Körnchen kein Abnutzungspigment darstellen. Hämosiderineisen, Malariapigment oder Formolpigment, sowie reines Hämoglobin konnten wir nicht nachweisen.

Obwohl die üblichen Eisenreaktionen auch bei uns negativ ausfielen, haben wir uns doch wie BRASS gefragt, ob "das in den Endothelzellen abgelagerte Pigment lediglich eine nicht die Eisenreaktion gebende Vorstufe des Hämosiderin oder eine der vielen Formen des abgebauten und modifizierten Blutfarbstoffes ist." Wir hatten bei dieser Überlegung besonders die statistischen Ergebnisse vor Augen, die ein signifikantes Ansteigen der Granula bei proliferativen Prozessen im Knochenmark, d. h. eisenverbrauchenden Vorgängen zeigen. Konkretere Hinweise sprechen jedoch für die Identität mit Melanin. Das übereinstimmende Verhalten in den Versuchen mit Natronlauge, mit Bleichen, mit Nilblausulfat, und mit Versilberung scheint diese Annahme zu beweisen. Schwer zu erklären ist aber, was das Vorkommen von Melanin, einem polymeren Indolderivat mit einer Eiweißkomponente, das sonst vorwiegend in der Haut vorkommt, in den Sinusendothelien des Knochenmarks bedeutet.

Da erst die heranreifenden Erythrocyten die Sinuswände passieren und da die hier untersuchten Körnchen bei normaler Erythropoese in den Sinuswänden vorkommen, bei gesteigerter Erythropoese vermehrt sind und bei verminderter Erythropoese abnehmen, ist an einen Zusammenhang mit der Einschleusung oder mit der vermehrten Produktion der roten Blutzellen zu denken. Dies um so mehr, als - wie schon gezeigt wurde - die Zahl der Körnchen nicht einfach als Funktion einer vermehrten Bildung von Sinusendothelien betrachtet werden kann. Das Beispiel der Polycythaemia vera zeigt am deutlichsten den Zusammenhang, der zwischen der Entwicklung einer Sinushyperplasie, hyperaktiver Erythropoese, verstärkter Abgabe von roten Blutkörperchen an die Peripherie und vermehrtem Auftreten von Pigmentkörnchen in den Sinusendothelien besteht. In unseren Fällen mit hoher Körnchenzahl werden vor allem die Kerne der reifenden roten Blutzellen abgebaut. Daß Melanin als Intermediärprodukt des Eiweißstoffwechsels aus diesem karyolytischen Prozeß gerade in den Sinusendothelien aufgehalten werden soll, nimmt bei der geringen Neigung dieser Zellen zur Speicherung wunder. Es ist allerdings schon länger bekannt, daß Melanin nicht nur eine Schlacke ist, die gerade noch zur Licht- und Wärmeisolierung ausreicht. Vielmehr ist es chemisch aktiv sowohl als Ionenaustauscher wie durch freie Valenzen auch bei der Bindung freier Radikale. IPPEN rechnet damit, daß das Melanin als Depotform einer phy-

siologisch bedeutsamen Substanz in gewissem Umfang depolymerisiert werden kann.

Hypothetisch wäre ein Zusammenhang der Melaninbildung mit dem erhöhten Verbrauch an Ferritin bei gesteigerter Erythropoese denkbar. Die Vorstellung, daß die Eiweißkomponente dieser Verbindung, die auf dem Blutweg zugeführt wird, in den Sinusendothelien abgehängt wird, hat eine experimentelle Parallele in ähnlichen Vorgängen bei der Injektion von Eisen-Dextran-Komplexen ins Mark. Daß wir in einzelnen Fällen dieselben Körnchen auch in Endothelien arterieller Kapillaren finden konnten, würde gut mit der Annahme zu vereinen sein, daß das Material zu ihrem Aufbau aus dem Kreislauf und nicht aus dem Markparenchym stammt. Ob die Bausteine für die Eiweißkomponente der Eisenverbindung und Melanin gemeinsamen Charakter tragen, muß weiter geprüft werden.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Mit neuen Biopsie- und Präparationsmethoden erkennt man das regelmäßige Vorkommen von Pigmentkörnchen in den Sinusendothelien des menschlichen Knochenmarks. Ihre Beziehungen zu normalen und krankhaften Zuständen des Organismus wurden an 411 Schnittpräparaten derselben Patientenzahl durch den Vergleich ihrer Häufigkeit und durch färberische Nachweismethoden untersucht. Diese Untersuchungen führten zu folgenden Aussagen:

1. Es besteht keine Korrelation zwischen der Dichte der Sinusendothelien und der in ihnen enthaltenen Pigmentkörnchen.
2. Beide Merkmale besitzen keine Beziehung zum Geschlecht und keine statistisch nachweisbare Beziehung zum Lebensalter der untersuchten Personen.
3. Die fraglichen Körnchen finden sich immer bei Normalpersonen und zwar bereits im Kindesalter.
4. Sie fehlen vollständig bei schweren Knochenmarkschäden.
5. Sie sind vermehrt bei allen Krankheitszuständen, die mit einer Steigerung der Erythropoese einhergehen.
6. Ihre Menge ist verringert bei starkem Hämosideringehalt des Knochenmarkreticulum und umgekehrt.
7. Möglicherweise bildet eine noch unbekannte Eisenverbindung die Grundlage unserer Pigmente.
8. Wahrscheinlich ist, daß die Körnchen aus Melanin bestehen.

Aus diesen Feststellungen ergibt sich die Notwendigkeit, die Beziehung zwischen dieser Substanz und den Vorgängen der erythropoetischen Karyolyse, der Einschleusung der roten Blutzellen in die Sinuslumina und der Versorgung der Erythropoese mit Transport-Eisen weiter zu untersuchen.

G. LITERATURVERZEICHNIS

- ASKANAZY, M.:
Knochenmark in: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie.
Verl. Jul. Springer, Berlin, 1 (1927)
- ASCHOFF, L.:
in: Handbuch der Krankheiten des Blutes u. der blutbildenden Organe.
Verl. Jul. Springer, Berlin, (Schittenhelm, A.) 2 476 (1925)
- BARGMANN, W.:
Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
Verl. Georg Thieme, Stuttgart.
4. Aufl. (1962)
- BIONDI, C.:
Experimentelle Untersuchungen über die Ablagerung von eisenhaltigem Pigment in den Organen infolge von Hämolyse.
Zieglers Beitrag z. Path. Anat. u. allgem. Pathol. (1895)
- BRANEMARK, P. J.:
Experimental Invest. of Microcirculation in Bone Marrow.
Angiology Vol 12 293 - 305. (1961)
- BRASS, H.:
Über physiologische Pigmentablagerung in den Kapillarendothelien des Knochenmarks.
Arch. für mikroskop. Anatomie 82, 61-78. (1913)
- BURKHARDT, R.:
Die klinische Histologie der normalen und pathol. Erythropoese im menschlichen Knochenmark.
Folia haemat. 9, 353 (1964)
- BURKHARDT, R.:
Technische Verbesserungen und Anwendungsbereich der histologischen Biopsie von Knochenmark und Knochen.
Klin. Wochenschrift (1966)
- BURKHARDT, R.:
Präparative Voraussetzungen zur klinischen Histologie des menschlichen Knochenmarks. Blut, Erste u. zweite Mitteilung. Im Druck

- COUSIN: Notes biologiques sur L'endothélium vasculaire.
Société biol. 454 (1898)
- DOAN, Ch.: The Capillaries of the Bone Marrow of the Adult Pigeon. The John Hopkins Hosp. Bulletin 33, 222 (1922)
- FIESCHI, A., SACCHETTI, C.: Handbuch der gesamten Hämatologie. Verlag Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin-Wien. 1 (1957)
- FRESEN, O.: Zur normalen und pathologischen Histologie des reticulo-endothelialen Systems. Reticulose - Monocytenleukämie. Med. Habilitationsschrift. Düsseldorf (1945)
- FRESEN, O.: Die Pathomorphologie des reticulo-endothelialen Systems. Verh. der dtsh. Gesellschaft f. Pathologie. 37, 26 (1953)
- FRESEN, O.: Orthologie und Pathologie der heterotopen Hämpoese. Ergebnisse der allg. Pathologie. 40, 139 (1960)
- GABEL, P.: Experimentelle Untersuchungen über den Blutkreislauf im Wirbelkörper des Hundes. Med. Inaugural Diss. München (1966)
- GLAEVECKE, L.: Über die Ausscheidung und Verteilung des Eisens im tierischen Organismus, nach Einspritzung von Eisensalzen. Med. Inaugural Diss., Kiel (1883)
- HOFFMANN, F., LANGHANS, P.: Über den Verbleib des in die Zirkulation eingeführten Zinnobers. Virchows Arch. 48, (1869)
- IPPEN, H.: Zur Problematik der Pigmentforschung. Dtsch. med. Wschr. 16, 798 (1964)
- KINOSITA, R., OHNO, S.,
BIERMANN, H.R.: Observations on Regenerating Bone Marrow. Tissue in situ. Proc. Americ. Ass. Cancer Res. Vol. 2, Nr. 2, 125, (1956) zitiert nach Remagen u. Branemark.

- LANGHANS, P.:
Beobachtungen über die Resorption der Extravasate und Pigmentbildung in denselben.
Virchows Arch. 49, (1870)
- LÖFFLER, H.:
Untersuchungen über die Aktivität der alkalischen Phosphatase und der unspezifischen Esterase in den Reticulumzellen des Knochenmarks. Ein Vergleich zwischen Knochenmark und Lymphknoten. Folia hämatol., Frankfurt 6, 164 - 169 (1961)
- NAUNYN, B., MINKOWSKY, O.:
Beiträge zur Pathologie der Leber und des Ikterus.
Arch. f. exper. Pathologie und Pharmakologie. 21 (1886)
- NETOUSEK, M.:
Über Endothelien und ihre Beziehungen zu den Monocyten. Folia haematologica. Leipzig. 19, (1914)
- NEUMANN, E.:
Über die Bedeutung des Knochenmarks für die Blutbildung. Arch. der Heilkunde (1869)
- PEASE, J. C.:
An Electron microscopic Study of Red Bone Marrow. Blood 11, 101 - 515 (1956)
- PETERS, G.:
Beobachtungen über Eisenablagerungen in den Organen bei verschiedenen Krankheiten.
Dtsch. Arch. f. klin. Med. 32, (1883)
- PONFICK:
Studien über die Schicksale körniger Farbstoffe im Organismus.
Virchows Arch. 48 (1869)
- RIBBERT, H.:
Die Abscheidung intravenös injizierten gelösten Karmins in den Geweben.
Zschr. f. allgem. Physiologie. 4, 201 (1904)
- SCHMIDT, M.:
Über die Verwandtschaft der hämatogenen und autochthonen Pigmente u. deren Stellung zu Hämosiderin.
Virchows Arch. 115, (1889)

SIEBEL, W.:

Über das Schicksal von Fremdkörpern
in der Blutbahn.

Virchows Archiv. 104, (1886)

ZAMBONI, PEASE, J.C.:

The vascular Bed of Red Bone Marrow.
Ultrastructure Research 5, 65 - 85,
(1961), zitiert nach Branemark und Re-
magen.

Für die Überweisung des Themas, die Überlassung des histologischen Materials, sowie für die freundliche Unterstützung möchte ich Herrn Dr. Rolf Burkhardt herzlich danken.

Herrn Professor Dr. Herbert Schwiegk, der das Referat liebenswürdigerweise übernommen hat, bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Fräulein Linhart und Fräulein Maier danke ich besonders für die Hilfe bei den technischen Arbeiten.

LEBENS LAUF

Am 4. Januar 1940 wurde ich in Berlin als Tochter des Dr. phil. Hermann Gerstner und seiner Ehefrau Dr. med. dent. Ingeborg Gerstner, geb. Ruegenberg geboren. Seit 1941 wohne ich in München. Dort besuchte ich von 1946 bis 1950 die Volksschule und anschließend das Realgymnasium am Anger. Im Juni 1959 schloß ich meine Schulzeit mit der Reifeprüfung ab. Ich erhielt das "Bayer. Stipendium für besonders Begabte." Im Wintersemester 1959/60 immatrikulierte ich mich an der Ludwig-Maximilian-Universität zu München. Dort blieb ich bis zum Abschluß meines Medizinstudiums. Nach dem Vorphysikum im Sommer 1960 bestand ich im Wintersemester 1961/62 die ärztliche Vorprüfung. Im Januar 1965 heiratete ich den wissenschaftlichen Assistenzarzt Dr. Hendrik Dobbelstein. Nach 11 Fachseminestern legte ich im Frühjahr 1965 an der Münchner Universität die ärztliche Prüfung ab.

